

## ヒト鋤鼻器官に関する形態学的研究

金沢大学医学部医学科耳鼻咽喉科学教室 (主任: 古川 俊教授)

山 本 圭

鋤鼻器官は多くの哺乳類においてフェロモンを受容し伝達する重要な器官である。近年ヒト成人においても存在する可能性が高いことが報告されるようになってきたが、日本人においては十分に検討されていない。また鋤鼻器官が機能を有しているのか否かという点に関してもいまだ解明されないままである。そこで、0歳から92歳までの920名に対して内視鏡を用いて鼻腔内における鋤鼻器官の存在の有無を観察するとともに、解剖実習用遺体を用いて鋤鼻器官の肉眼的、組織学的観察を行った。その結果、生体においては51.3%に鋤鼻器官の存在が確認できた。遺体では91.3%で鋤鼻器官が観察可能であった。組織学的検討では33.3%に上皮下の管腔構造を認め、抗PGP9.5抗体を用いた免疫組織化学的観察では上皮内に神経性の機能を持つと思われる双極性細胞を認めるとともに、上皮内から上皮下へ連続するPGP9.5陽性線維を認めた。以上の結果からヒト成人にも鋤鼻器官は高率に存在し、その中には神経性の性質を有する細胞が存在し神経性伝達を示唆する所見が得られた。

**Key words** 日本人, 鋤鼻器官, フェロモン, 免疫組織化学, 抗PGP9.5抗体

鋤鼻器官 (vomeronasal organ, VNO) は両生類、爬虫類ならびに多くの哺乳類の鼻腔内に存在する化学受容器官であり、最初に多種の動物にわたり系統的に研究を行ったJacobsonにちなみ、Jacobson器官ともよばれている。VNO内に存在する受容細胞は樹状突起を管腔内に突出させる一方で、軸索は上皮下に伸展し軸索束を形成し嗅球後方の副嗅球でシナプスを形成するという嗅覚系と類似した形態をとっている。しかし解剖学的にみた投射系に関しても生理学的にみた機能に関しても嗅覚系とは全く独立した神経系となっていることが判明し、この一連の化学受容系は鋤鼻嗅覚神経系と呼ばれるようになった<sup>1,2)</sup>。鋤鼻嗅覚神経系は機能的には大部分の動物においてフェロモン物質を受容、伝達する神経系であることが知られている。フェロモンは体外に放出され同じ動物種の他の個体に作用し、相手の行動や生理状態に影響を与える物質と定義され、その効果は大きく次の2種に分けられる。すなわち、同種他個体に直接的に特異的な行動を引き起こさせる「リリーサー効果」と、同種他個体の生理機能に影響し、間接的に発達や生殖機能に変化を与える「プライマー効果」と呼ばれる反応であり、いずれも個体ならびに種の保存に欠かせない反応である。

一方、ヒトのVNOは胎児期には存在することが知られていたが、出生後の存在に関して研究が本格化したのは1990年代に入ってからとその歴史は浅い。これまでの一連の研究によりヒトにもVNOが存在する可能性は強く示唆されたものの、VNOから中枢へ繋がる経路および動物における副嗅球に相当する脳領域はいまだに証明されていない。また日本人を対象とした、VNOの存在に関する検討はいまだ行われていない。また機能的には、動物における「プライマー効果」に匹敵すると

思われる女性の寄宿舍効果は古くから知られており<sup>3-5)</sup>、さらに近年、女性のわきの下から分泌される物質が女性性周期に影響を与えることが証明されたが<sup>6)</sup>、それらの効果がVNOを介したものの否かは判明していない。そこで本研究ではヒト鼻腔内をファイバースコープを用いて詳細に観察し、VNOの存在の経年変化を検討するとともに、解剖体を用い免疫組織化学的に観察し、その機能に関する検討を行った。

## 対象および方法

## I. 生体の内視鏡による観察

対象は、金沢大学医学部付属病院耳鼻咽喉科、中川耳鼻咽喉科医院 (富山県下新川郡) ならびに三輪病院耳鼻咽喉科 (富山市) を受診した患者および各施設における医療従事者である。鼻内手術の既往のあるものおよび鼻腔内が十分に観察できないほど強度の鼻中隔彎曲を有する者を除外した他は、鼻疾患その他の疾患の有無は問わなかった。全ての対象者に対して口頭にて説明し同意を得た。

VNOは動物およびヒト胎児では鼻中隔前下方に存在するため、両側ともに鼻入口部から3 cm以内の鼻底付近の鼻中隔面を中心に直径3 mmの軟性内視鏡にて観察した。観察に際しては原則として麻酔その他の処置は行わなかったが、下鼻甲介が著しく腫脹し観察に支障をきたす対象に対しては、下鼻甲介表面を2%塩酸リドカイン (キシロカイン®) にて麻酔した後、0.001%エピネフリン (ボスミン®) を塗布し粘膜の収縮を図った。

VNOは出生後のヒトでは鼻中隔面に小窩として観察される他、円形および楕円形の陥凹としても観察されるとされている

平成12年1月6日受付, 平成12年3月6日受理

Abbreviations: PGP9.5, protein gene product 9.5, PDD, pregna-4,20-diene-3,6-dione, VNO, vomeronasal organ, VNE, vomeronasal epithelium

が、生理的な陥凹あるいは鼻中隔彎曲による溝が存在する場合、VNOであるか否かの鑑別は困難である。従って小窩を有する例および両側対称性に陥凹が存在する例を確実例とし、小窩が確認できず陥凹が一侧のみに存在する例を疑い例、鼻中隔両側に小窩、陥凹とも見いだせない例を陰性とした。

## II. 解剖体VNOの肉眼的観察

平成10年度金沢大学医学部ならびに信州大学医学部において解剖実習に供された遺体を対象とし、肉眼的ならびに組織学的観察を行った。頭部を正中から左方約10 mmの部分で左右に切断し、鼻中隔を前下方で一辺3 cmの矩形に切り取り両面を観察した。鼻中隔彎曲のために頭部切半の際に鼻中隔が損傷した遺体は除外した。

肉眼的観察は内視鏡観察と同様、小窩および陥凹に注目し、小窩が存在する例および両側対称性に陥凹が存在する場合を確実例、片側のみに陥凹が存在する例を疑い例、両側とも小窩も陥凹も存在しない例を陰性とした。

## III. 解剖体鼻中隔粘膜の組織学的観察

肉眼的観察を行った後、組織標本を作製し観察した。摘出した鼻中隔組織は陥凹あるいは小窩の存在する例ではそれらを中心とし、両側ともに含まれるように1 cm四方に切り取り、両側とも陥凹を認めない例では、他の確実例とほぼ同様の部位を切り取った。4%パラホルムアルデヒド溶液にて固定した後、ブランク・リクロ液にて脱灰を行った。一部の標本は上昇エタノール系列にて脱水した後、パラフィン包埋しマイクロトームにて1 mm間隔で4  $\mu$ mの切片を作製し、一部は厚さ30  $\mu$ mの凍結切片標本を作製し、それぞれHE染色と免疫染色に用いた。切片はスライドガラスに貼りつけ、HE染色と抗Protein gene product 9.5 (PGP9.5) 抗体を用いた免疫組織染色を隣接した切片に施した。免疫組織化学法は、以下のごとくアビジン-ビオチンペルオキシダーゼ法にて行った。まず標本をキシレンにて脱パラフィンした後、内因性ペルオキシダーゼ反応を阻止するため、0.1%過酸化水素加メタノール液にて10分間漬け、さらに非特異的反応を抑制するため10分間、5%正常ヤギ血清と反応させた。次に一次抗体である抗PGP9.5抗体 (1:2,000, Ultraclean, Wellow, England) と室温にて一晩反応させた後、ビオチン化ヤギ抗ウサギ抗体 (1:250, Vector, Burlingame, USA) と1時間、室温にて反応させた。発色はジアミノベンチジン (3,3'-diaminobenzidine) 溶液にて7~15分間反応した。対照としては一次抗体の反応過程を除いて反応を行ったところ、陽性所見

は認めなかった。

## 成 績

### I. 生体の内視鏡による観察

典型的な確実例のVNOの内視鏡所見を図1に示す。本例は36歳男性である。右鼻腔入口部から約3 cm後方の部分で鼻底から約1 cmの高さに前後5 mm、上下2 mmの楕円形の陥凹を認め、陥凹の後端から後方に向かう小孔を認めた。

内視鏡による観察は、0歳から94歳まで920名 (男性454名、女性466名) に対して行った。表1に内視鏡による観察結果および解剖体の肉眼観察結果を示す。920名中、確実例は354例 (38.5%)、疑い例は118例 (12.8%) で確実例と疑い例を含めた全体の陽性率は51.3%であった。男女別に見ると男性50.0%、女性52.6%と男女差は認めなかった。年代別に見ると10歳未満では25.0%と低かったが70歳以上では76.7%と加齢とともに増加する傾向を示した。各年代における男女差は認めなかった。

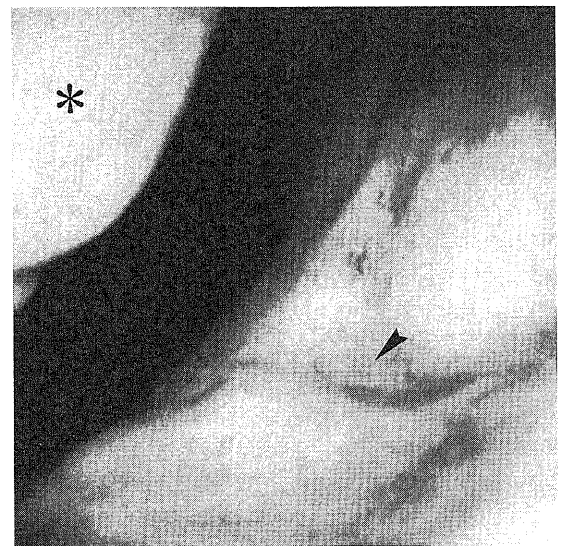


Fig. 1. Endoscopic findings of the right nasal cavity from 36-years-old male. A small pit (arrow head) can be seen at the lower portion of the nasal septum. An asterisk points to the inferior turbinate.

Table 1. Frequency of occurrence of vomeronasal organ

Age	Case number	Frequency (%)	Male			Female		
			Positive	Suspicious	Negative	Positive	Suspicious	Negative
0-9	100	25.0	8	2	32	10	5	43
10-19	100	35.0	13	6	31	11	5	34
20-29	120	48.3	13	8	22	27	10	40
30-39	120	50.8	27	9	33	20	5	26
40-49	120	50.0	11	4	41	35	10	19
50-59	120	53.3	26	6	32	26	6	24
60-69	120	64.2	33	7	22	29	8	21
70-	120	76.7	36	18	14	29	9	14
Total	920	51.3	167	60	227	187	58	221
Cadavers	23	91.3	5	5	1	8	3	1

## Ⅱ. 解剖体を用いた肉眼的観察

観察を行った解剖体は23体で男性11体、女性12体で年齢は54歳から94歳まで平均79.4歳であった。肉眼観察においてVNOの残存を示す小窩および両側対称性の陥凹を認めた遺体は13例(56.5%)、一侧にのみ陥凹を認めた疑い例は8例(26.7%)で両者をあわせると91.3%であった。

## Ⅲ. 解剖体鼻中隔粘膜の組織学的観察

組織学的観察には21体42側の鼻中隔粘膜を用いた。VNOは粘膜固有層を前後に伸びる上皮で裏打ちされた管腔組織であるため、HE染色にて上皮下に上皮様構造を有する管腔を観察した。遺体の固定状況が一定ではなく不良な例もあり、上皮が脱落しVNOであったのか血管であったのか判別できない例も認めたが、42側中14側で粘膜固有層に明らかに上皮様構造を有する管腔を認めた(図2A, B, C)。粘膜固有層の管腔は多くは肉眼観察において小窩を認めた粘膜に認めたが、小窩を認めた例でも組織学的に管腔を認めない粘膜もあり、逆に小窩が肉眼で認められなかった例において管腔が組織学的に認められる例もあった。

抗PGP9.5抗体を用いた免疫組織化学的観察においては、肉

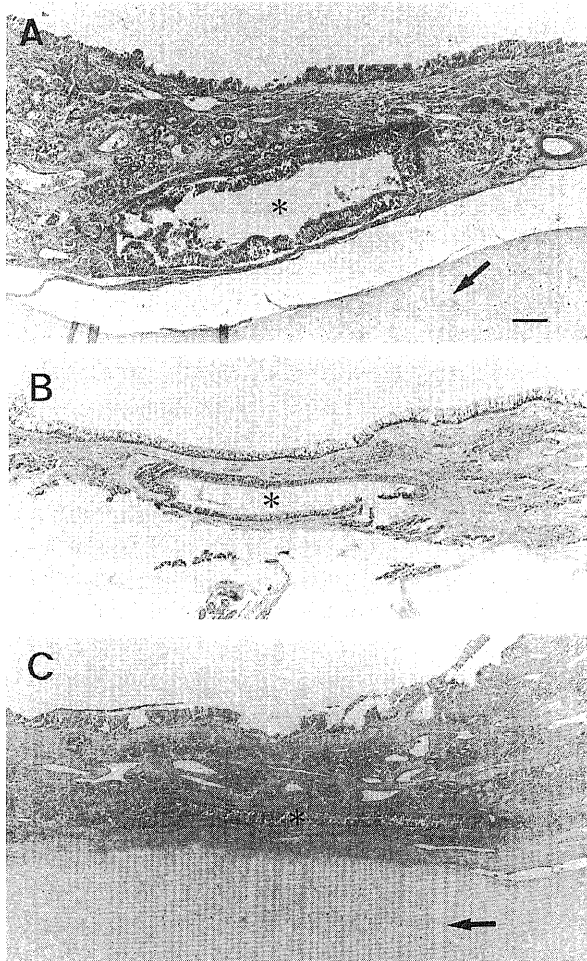


Fig. 2. Light microscopic findings of vomeronasal organs from cadavers. (A) 88-years-old female. (B) 74-years-old male. (C) 84-years-old male. Notice vomeronasal epithelia (\*) in the lamina propria. An arrow indicates cartilage of the nasal septum. HE stain. Bar = 200  $\mu$ m.

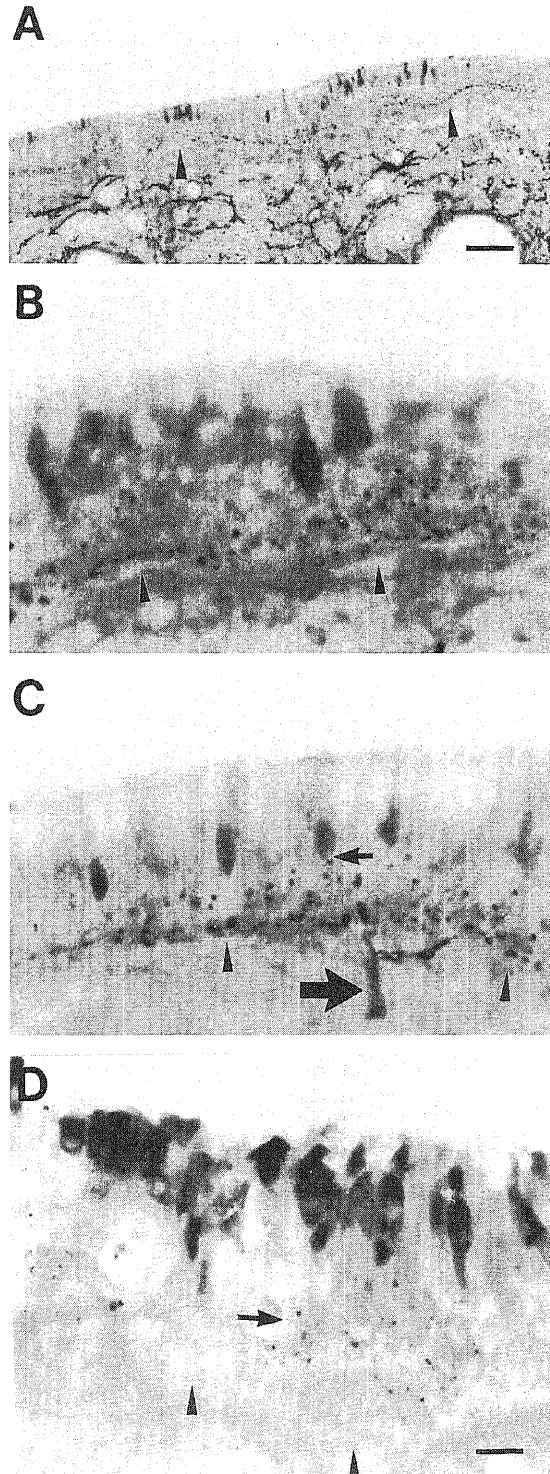


Fig. 3. Immunohistochemistry for protein gene product 9.5 (PGP 9.5) of vomeronasal epithelia from cadavers (A-C: 79-years-old Male D: 72-years-old Female). (A) Low power photomicrograph of the vomeronasal epithelium. Note PGP 9.5-immunoreactive cells in the vomeronasal epithelium and PGP 9.5-immunoreactive fibers in the subepithelium. (B) PGP 9.5-immunoreactive nerve fibers of the varicose type can be seen within the vomeronasal epithelium. (C) A subepithelial axon (large arrow) enters the basement membrane and emits varicose nerve fiber both with PGP 9.5-immunoreactivities. (D) Intensely immunostained cells and intraepithelial PGP 9.5-immunoreactive nerve fibers (arrow). Arrowheads point to basement membranes. Bar = 100  $\mu$ m (A). Bar = 20  $\mu$ m (D).

Table 2. The positive ratio of the human vomeronasal organ in the previous and present reports

Author	Year of publication	Nation	Observation method	Case number	Frequency of occurrence
Johnson et al	1985	Canada	Unaided eye	100	39.0
Stensaas et al	1991	USA	Unaided eye	410	92.7
Moran et al	1991	USA	Microscope	200	100.0
Garcia-Velasco et al	1991	Mexico	Unaided eye	1,000	91.0
Gaafar et al	1998	Egypt	Endoscope	200	76.0
Eloit et al	1998	France	Endoscope	564	33.9
Hummel et al	1999	Germany	Endoscope	173	60.0
Yamamoto	2000	Japan	Endoscope	920	51.3

眼的に認められた粘膜の陥凹部分および管腔の上皮内に陽性細胞を散在的に認めた。陽性細胞は上皮表面と深部の両方向に伸びる双極性の形態を示し、陽性反応は核周囲部に強く認められた。上皮下の粘膜固有層にはPGP9.5陽性線維が多数存在し、それらは腺組織および血管周囲に多く認められた(図3A)。強拡大像において抗PGP9.5抗体陽性線維は上皮内の深層にも認められ、それらの線維は所々瘤状の所見を呈していた(図3B)。これらの線維は上皮内において抗PGP9.5抗体陽性の双極細胞に近接して存在していた。また、基底膜を貫通して粘膜固有層にまで連続して伸び、粘膜固有層において複数の神経線維が集合して神経束を形成する所見も得られた(図3C)。また異なる遺体ではPGP9.5陽性細胞は比較的密に集合し、同様に上皮内には抗PGP9.5抗体陽性線維の集積が認められた(図3D)。

### 考 察

ヒトのVNOの存在に関する最初の報告は今を遡ること約300年、オランダの軍医であるRuyshが青年兵士の鼻腔開放創において発見したものである。その約100年後の1811年にJacobsonが哺乳類におけるVNOの報告を行いJacobson器官と名付けた。しかし当時のJacobsonはヒトにおいてはVNOを見つけれなかった<sup>9)</sup>。さらに90年後の1891年、PotiquetがヒトVNOの形態の詳細な報告を行って以来、多くの報告が見られるようになったが、ヒトのVNOは胎児期には存在するものの、生後は退化していく器官として、また機能を有さない器官とみなされ、解剖学者や生理学者の関心を得ることはなかった<sup>9)</sup>。ところが、1991年にヒトVNOが何らかの機能を有する可能性が示唆されたことをきっかけに、再び活発に研究が行われるようになった<sup>10)~13)</sup>。この背景には近年の内視鏡の発達に加え電子顕微鏡、免疫組織化学といった組織研究法の発達があるものと思われる。

近年各国から報告されたヒトVNOの存在に関する報告を表2に示す<sup>10)~12),14)~16)</sup>。VNOの存在率はフランスのEloitら<sup>15)</sup>の33.9%からアメリカ合衆国のMoranら<sup>10)</sup>の100%までかなりのばらつきが見られるが、これは観察に用いられた器具あるいは観察方法の違いによるものと思われる。またメキシコのGarcia-Velascoら<sup>12)</sup>は、1,000人の鼻腔を内視鏡を用いて観察し、最初にVNOが確認できた808名の他に鼻中隔彎曲症の手術を施行することによりさらに102名で観察できたとの報告を行った。この点から鼻腔内の形態にも影響を受け、手術例での観察では高い陽性率が得られるものと思われる。今回の結果では全体で51.3%の陽性率であり、年代別に見ると年令が高くなるほ

ど陽性率が上昇する傾向にあった。また本来、VNOは鼻腔に小孔を開く管状の器官であるため小窩として見られるものであるが、高齢者ほど小窩としてではなく鼻中隔粘膜の円形ないしは楕円形のくぼみとして観察される傾向が強く見られた。この点に関してはヒト以外の哺乳類のVNOとの構造的な違いによるものと思われる。すなわち、ヒト以外の哺乳類はVNOは鋤骨に囲まれているため、鼻腔から観察すると円筒形の突出物として粘膜面から浮き出て観察される。それに対してヒトのVNOは周囲を覆う骨構造がないため、鼻腔側からの突出としては観察できない。さらに長年にわたる外的刺激あるいは加齢変化により粘膜が萎縮するとともに小窩を中心にVNOの鼻腔側の粘膜が退行していき小窩の拡大の結果、陥凹として観察されるようになったものと思われる。解剖体では年令がさらに高くなりVNOの存在率も高率となったが、これは同部の観察がさらに容易になったことに加え、このように萎縮がさらに進んだためと思われる。逆に若年者では鼻腔が狭く観察しづらいことに加えて、高齢者ほど萎縮をきたしていないため陥凹変化は少なく本来の小窩として存在し、そのために内視鏡を用いても観察不能であったものと思われる。高齢者での高い存在率を考えると実際には各年代においてかなり高率にVNOは存在しているものと考えられる。

VNOの管腔構造に関しては鼻中隔表面からは観察できないため、解剖体を用いて組織学的な観察を行った。その結果、明らかに管腔構造を呈した粘膜は42例中14例と全体の3分の1にすぎなかった。しかし、抗PGP9.5抗体を用いて免疫組織化学的に観察したところ、管腔構造のない中隔粘膜においても肉眼的に粘膜の陥凹に一致した部位に陽性細胞が認められたことから、先に述べたように陥凹部分も元来はVNOであったことが示唆された。この点もVNOそのものは成人後も存在するという裏付けになると思われる。

さて、それではヒトのVNOは何らかの機能を有しているのだろうか。今回の著者の結果および過去の報告から他の動物におけるVNOの機能と比較し組織学的な観点から考察してみる。

VNOは多くの動物においてフェロモンを受容する器官として重要な役割を有している。フェロモンは同種の異個体に作用してその行動や生理機能に影響を与える生理活性物質と定義され、その作用としては直接的に特異的な行動を引き起こす「リリーサー効果」と、間接的に発達や生殖機能に影響を与える「プライマー効果」が知られている。前者の例としてはヤギ、ゾウ、ウマ、ネコ等、雄の動物が雌の排泄物あるいは体そのも

のに鼻を近づけてニオイを嗅いだあと頭を持ち上げて上唇を持ち上げて歯をむき出す「フレーメン」と呼ばれる行動や、雌ブタの不動反応という特有の性行動が挙げられ、それらの行動を引き起こすフェロモン物質は単離され構造も報告されている<sup>17)18)</sup>。後者のプライマー効果の例としては主に雌への作用がよく知られており、雄から雌への反応としてマウスにおいて性成熟を促進させるVandenbergh効果<sup>19)</sup>、卵巢機能を活性化させるWhitten効果<sup>20)</sup>、妊娠を阻止し流産を引き起こすBruce効果<sup>21)</sup>ならびにヒツジやヤギに季節外繁殖を引き起こすと言われているMale効果<sup>22)23)</sup>があり、雌から雌への作用としては卵巢機能を抑制させるLee-Boot効果<sup>24)</sup>が知られている。プライマー効果を引き起こすフェロモンは未だ十分に解明されていないが、Male効果を起こすフェロモン物質はアンドロステノンの作用によって産生されることが知られており<sup>25)</sup>、その他の効果も全て性ホルモンの影響を及ぼしていることからフェロモンはホルモンと密接な関係を持つものといわれている。

これらのフェロモンの刺激を受容し伝達する鋤鼻神経系の経路に関しても近年盛んに研究が行われ解明が進んでいる。VNO内の神経細胞は嗅粘膜における嗅細胞と同様、双極性の形態を有している。その軸索は鼻中隔粘膜固有層まで伸びて軸索束を形成し、さらに頭蓋内に入り嗅球の後背側に存在する副嗅球でシナプスを形成し、扁桃体内側核に投射する。その後神経は扁桃体内側核から分界条を経由して分界条前核および視索前野に至り、視床下部などの高位中枢に伝達される<sup>26)</sup>。従って、最終的には視床下部からの情報がフェロモンとしての作用を引き起こしているものと考えられている。

以上がヒト以外の動物にみられるフェロモンの作用とVNOの構造と機能であるが、それではヒトではどうであろうか。ヒトにおいて動物におけるフェロモン作用と同様な作用としてこれまで知られているのは、寄宿舎効果である。これは寮等で共同生活している女子学生の月経周期が同期してくる現象である<sup>27-29)</sup>。またSternら<sup>7)</sup>は、濾胞期後期に採取した腋下分泌物を女性の鼻の下に塗ると濾胞期が短縮し排卵が早まり、排卵期に採取した腋下分泌物を塗ると排卵がおくれることから、腋下分泌物には月経周期に影響を及ぼす物質が含まれていると報告した。これらの現象はいずれも動物のプライマー効果に相当するが、実際にそれらを引き起こしている物質の構造は判明していない。一方で動物におけるリリーサー効果に相当する現象をもくろんで、香水市場においては1993年から様々なフェロモン入りと銘打った香水が出回っているが、いずれも科学的根拠にかけものである。生理学的な観点からMonti-Blochら<sup>13)27)</sup>は、ヒトの皮膚から抽出した物質がヒト鋤鼻細胞の活動電位を誘起することを証明しVomeropherinと名付けた。さらに、近年彼らは、Vomeropherinには数種のタイプがあり、その内の一つの構造がプレグナ-4,20-ジエン-3,6-ジオン (pregna-4,20-diene-3,6-dione, PDD) であると報告し、PDDによって鋤鼻電位が発生し、性腺刺激ホルモンの分泌が影響を受けたと同時に報告している<sup>28)</sup>。

このように行動学的および生理学的にはヒトVNOがフェロモンを受容している可能性は高まってきたが、解剖学的にもそれは証明可能であろうか。

ヒトVNOに関しては組織学的な研究も古くから行われていたが、1980年代後半からは電子顕微鏡、免疫組織化学法さらにコンピュータによる解析も加わり、様々な角度から検討がなさ

れ、ヒトとヒト以外の動物またはヒトにおける胎児と成人とで比較検討がなされている。Smithら<sup>29)30)</sup>はヒトの胎児および成人のVNOを摘出し組織標本を作製した後、三次元立体構築法を用いて検討を行った。その結果、胎児と成人とではVNOの位置と全体的な形は変わらないものの、前後長、器官の容積ならびに鋤鼻上皮 (vomeronasal epithelium, VNE) の容量はいずれも成人の方が大きく、その結果、VNOは胎児期よりも生後さらに発育する可能性が示唆された。光学顕微鏡での観察ではVNEは嗅上皮とは異なる多列線毛上皮構造を有し、基底細胞、明細胞ならびに暗細胞の3種の細胞によって構成されている。透過型電子顕微鏡での観察によると、暗細胞は卵形で核上部に豊富に分泌物を含んだ杯細胞様の構造を呈していることから粘液を分泌する細胞の可能性が示唆されている。一方、明細胞は核より下部は細く基底膜方向に伸び、核上部の細胞質は透過性が高く、粘膜表面に微絨毛を有することから化学受容細胞である可能性を秘めているが、ラットなど他の哺乳類の鋤鼻神経細胞は双極性の形態を有しておりその点において異なっている<sup>31)</sup>。免疫組織化学法を用いた研究ではヒトVNE内にも他の動物と同様にPGP9.5、神経特異的エノラーゼ等の神経細胞に特徴的な蛋白を有していることが証明されている<sup>32)33)</sup>。今回の著者の研究においても抗PGP9.5抗体陽性細胞は高率に存在し、さらにそれらの細胞は嗅細胞に見られるように双極性の形態を有していた。またそれらの細胞に近接して抗PGP9.5抗体で染まる線維を上皮内において確認したが、これらの線維は嗅球内におけるモノアミン神経線維のように、一見軸索終末を思わせるような瘤を有する点で嗅細胞の軸索とは異なる形態を呈した。従ってこの線維が他の哺乳類と同様に、鋤鼻神経細胞と直接連続する軸索である可能性も考えられるが、その形態から上皮内の細胞とシナプスを有する三叉神経や自律神経の軸索終末あるいは成人においてはその存在が十分には解明されていない終神経の軸索の可能性も否定はできず、今回の検討では確定までには到らなかった。

このようにVNO内には神経としての性格を有する細胞が存在しさらに上皮内から粘膜固有層まで伸びる神経線維も存在することから、フェロモン受容器官としての必要条件是備わっているものの、他方で他の哺乳類とは異なる点も認められる。まず、先にも述べたとおりヒトのVNOは骨、軟骨などの硬組織に取り囲まれていない。さらにVNOの存在する部分は鼻腔の中でも鼻中隔彎曲の影響を強く受ける部分であり、凸側と凹側とでは粘膜の厚さにも差が認められ、凸側では粘膜が非常に薄くなっている場合もある。鼻中隔彎曲はヒトにのみ認められる形態変化であり、ヒトが進化し、直立歩行をするようになったために頭部と顎とはさまれた鼻が前方へ突出することによって生じたものと推測されている<sup>34)</sup>。またヤギのフレーメンは、上唇をめくり上げて硬口蓋の切歯管からフェロモンを取り込むとされ<sup>35)</sup>、ヘビの舌なめずりにもおし物質をVNOに取り込むための行動といわれている。いずれも口腔から鼻腔への交通が存在することにより成り立つ現象であるが、ヒトでは切歯管は閉じているためフェロモンを受容するには不利な環境にあるといえる。組織学的にみたヒトと他の動物の相違点として、ヒトや動物の嗅細胞で認められる嗅神経特異蛋白 (olfactory marker protein) は動物の鋤鼻神経細胞およびヒト胎児の鋤鼻神経細胞では認めるもののヒト成人の鋤鼻細胞では認められない<sup>31)35)36)</sup>。またヒト以外の哺乳類ではVNOの内側すなわち鼻中隔側の上

皮に神経細胞が集中し、管の外側すなわち鼻腔側には線毛細胞が分布するといった、VNO内での上皮細胞の分化が見られるのに対して、ヒトではその様な分化は見られず全周性に均等な構造を示すとともに、抗PGP9.5抗体を用いた今回の結果からも陽性細胞は他の哺乳類のそれと比較して疎な分布を示した。動物で見られる粘膜固有層を通過する鋤鼻神経束に関してはヒトの場合、胎児では認められるとの報告<sup>39)</sup>はあるものの、成人ではこれまでは認められていなかった<sup>31),38),39)</sup>。今回の検討において上皮内から粘膜固有層へ連続しさらに固有層で集束する神経線維束を認めたものの全体の中でも極めて稀であり、神経細胞自体が数が少なく疎な分布となっていることを反映しているものと思われる。また、鋤鼻神経の一次中枢である副嗅球も胎児期には存在することが知られているが、成人では証明されていない<sup>40)</sup>。Meisamiら<sup>41)</sup>は副嗅球に関して詳細に組織学的検討を行い、胎生30週までは確認できたがそれ以降および出生後のヒトにおいては見いだせなかったとしている。従って、以上の形態学的な観点から他の動物と同様のVNO-鋤鼻神経-副嗅球といったフェロモンの受容伝達経路はヒトにおいては存在しても胎児期までで、生後発達とともに退化していくのではないかと考えられた。

一方、ヒトフェロモンの中枢への伝達経路を考える上で、動物にみられるVNO-鋤鼻神経-副嗅球とは別の終神経を介するフェロモン伝達経路の存在の可能性を示唆する報告もある。終神経は鼻中隔粘膜に終末を持つ自律神経に分類されているが、胎生期においてはVNOにも終末を有している<sup>42)</sup>。終神経は鼻粘膜内で神経節を持ち、節板を貫いた後は嗅球の内側を通過し一部は鋤鼻神経と合流し副嗅球内へはいり、一部は嗅球の後方で脳内に入るとされている。ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)産生細胞は発生過程において鼻の原基に出現して、この終神経を介して脳の深部まで侵入していくとされ、この侵入の障害によって起こる障害としてKallmann症候群が知られている<sup>43)</sup>。Kallmann症候群の場合、性腺の発育不全と嗅球の未発育による嗅覚障害を病態としており、これらの神経系と性機能とが強く関連づけられている。近年、Schwanzel-Fukudaら<sup>44)</sup>はマウスとヒトの終神経に関する詳細な研究を行い、終神経は退化した神経ではなく、成人でも存在する神経であると結論づけている。著者の今回の研究においてもVNE内あるいはVNO周囲の鼻中隔粘膜固有層に抗PGP9.5抗体陽性の瘤を有する線維を多く認めたことからこれらの線維が終神経である可能性も考えられる。

以上、著者の今回の結果および過去の報告からVNOのフェロモン受容器としての可能性を検討した。特定の物質による鋤鼻神経の電気的興奮あるいは終神経の存在等新たな知見は得られてはいるものの、それらはいずれも一施設からの報告であり、さらなる検討が必要であると思われる。また臨床的観点から考えると、この部位は嗅粘膜とは異なり鼻中隔の手術や、鼻出血の治療において様々な処置が加わるところであり、それらの手術や処置を受けた患者が何らかの性的な異常をきたしたとの報告もない。しかし、VNOには神経としての性格を有する細胞が存在することもまた事実であり、今回の結果からも何らかの神経伝達の可能性を示唆する所見が得られた。Sternら<sup>7)</sup>の報告でもわかるように、ヒトにとってのフェロモン受容器は鼻の中にある可能性は極めて高い。フェロモンによって性周期の調節が可能であるとする、その末梢受容器から中枢までの経路

を究明することは解剖学的のみならず臨床的にも意義深いことであると考えられる。

## 結 論

1. 0歳から92歳までの生体鼻腔内におけるVNOの存在を内視鏡を用いて観察した結果、920名中472名(51.3%)にVNOを認めた。VNOの存在には性差はなく高齢者になるに従い存在率は増加した。

2. 解剖実習に供せられた遺体の観察において23体中21体(91.3%)でVNOを認めた。組織学的観察においては42側の粘膜中14側(33.3%)にVNOと思われる上皮に裏打ちされた管腔を認めた。

3. 遺体粘膜の抗PGP9.5抗体を用いた免疫組織化学的検討において、上皮内に双極性の陽性細胞と上皮内から粘膜固有層に連続する神経性の性格を有する線維を認めた。それらの線維は軸索終末を疑わせる瘤を有し、固有層において集束する所見も認められた。

4. 以上の結果から、ヒト成人にも神経としての機能を有するVNOは存在するものの、他の動物にみられるようなVNO-鋤鼻神経-副嗅球という神経連絡の存在は成熟とともに退化していく可能性が考えられた。

## 謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導とご校閲を賜りました金沢大学医学部耳鼻咽喉科学講座古川 仰教授ならびに三輪高喜助教授に深甚なる謝意を表します。また、解剖体からの組織採取にご協力いただくとともに組織学的研究に関してご指導、ご助言を賜りました信州大学医学部解剖学第二講座森泉哲次教授に深く感謝いたします。また、解剖体からの組織採取にあたりご指導ご高配を賜りました金沢大学医学部解剖学第二田中重徳教授ならびに中谷壽男助教授(現医学部保健学科教授)に心から感謝いたします。最後に本研究の遂行にあたり多大なるご援助ご協力を賜りました金沢大学医学部耳鼻咽喉科学教室員各位に厚く御礼申し上げます。

なお、本研究の要旨の一部は第99回日本耳鼻咽喉科学会学術講演会ならびに第47回日本耳鼻咽喉科学会中部地方部会連合会において発表した。

## 文 献

- 1) Winans SS, Scalia F. Amygdaloid nucleus: new afferent input from the vomeronasal organ. *Science* 170: 330-332, 1970
- 2) Halpern M. The organization and function of the vomeronasal system. *Annu Rev Neurosci* 10: 325-362, 1987
- 3) McClintock MK. Menstrual synchrony and suppression. *Nature* 229: 244-245, 1971
- 4) Russell MJ, Switz GM, Thompson K. Olfactory influences on the human menstrual cycle. *Pharmacol Biochem Behav* 13: 737-738, 1980
- 5) Preti G, Cutler WB, Garcia CR, Huggins GR, Lawley HJ. Human axillary secretions influence women's menstrual cycles: The role of donor extract of females. *Horm Behav* 20: 474-482, 1986
- 6) Weller A, Weller L. Menstrual synchrony between mothers and daughters and between roommates. *Physiol Behav* 53: 943-949, 1993
- 7) Stern K, McClintock MK. Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature* 392: 177-179, 1998
- 8) Bhatnagar KP, Reid KH. The human vomeronasal organ. I.



- Historical perspectives. A study of Ruysch's (1703) and Jacobson's (1811) reports on the vomeronasal organ with comparative comments and English translations. *Biomed Res* 7: 219-229, 1996
- 9) Monti-Bloch L, Jennings-White C, Berliner DL. The human vomeronasal system, A review. *Ann N Y Acad Sci* 855: 373-389, 1998
  - 10) Moran DT, Jafec BW, Rowley JC III. The vomeronasal (Jacobson's) organ in man: ultrastructure and frequency of occurrence. *J Steroid Biochem Molec Biol* 39: 545-552, 1991
  - 11) Stensaas LJ, Lavker RM, Monti-Bloch L, Grosser BI, Berliner DL. Ultrastructure of the human vomeronasal organ. *J Steroid Biochem Molec Biol* 39: 553-560, 1991
  - 12) Garcia-Velasco J, Mondragon M. The incidence of the vomeronasal organ in 1000 human subjects and its possible clinical significance. *J Steroid Biochem Molec Biol* 39: 561-563, 1991
  - 13) Monti-Bloch L, Grosser BI. Effect of putative pheromones on the electrical activity of the human vomeronasal organ and olfactory epithelium. *J Steroid Biochem Molec Biol* 39: 573-582, 1991
  - 14) Gaafar HA, Tantawy AA, MelisAA, Hennawy DM, Shehata HM. The vomeronasal (Jacobson's) organ in adult humans: Frequency of occurrence and enzymatic study. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 118: 409-412, 1998
  - 15) Eloit C, Wassef M, Ferrand J, Bensimon JL, Trotier D. Observations on adult human vomeronasal organs. *Chem Senses* 24: 64, 1998
  - 16) Hummel T, Kuhnau D, Knecht M, Abolmaali N, Huttenbrink KB. Anatomy of the vomeronasal organ: characterization by means of nasal endoscopy and magnetic resonance imaging. *XXIII th AChemS Abstract*: 92, 1999
  - 17) Rasmussen LE, Lee TD, Roelofs WL, Zhang A, Daves GD. Insect pheromone in elephants. *Nature* 379: 684, 1996
  - 18) Dorries KM, Adkins-Regan E, HalpernBP. Sensitivity and behavioral responses to the pheromone androstenone are not mediated by the vomeronasal organ in domestic pigs. *Brain Behav Evol* 49: 53-62, 1997
  - 19) Vandenbergh JG. Male odor accelerates female sexual maturation in mice. *Endocrinology* 84: 658-660, 1969
  - 20) Whitten K. Modification of the oestrous cycle of the mouse by external stimuli associated with the male. *J Endocrinol* 13: 399-404, 1956
  - 21) Bruce HM. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature* 184: 105, 1959
  - 22) Martin G, Oldham C, Cognie Y, Pearce D. The physiological responses of anovulatory ewes to the introduction of rams: A review. *Livest Prod Sci* 15: 219-247, 1986
  - 23) Chemineau P. Possibilities for using bucks to stimulate ovarian and oestrus cycles in anovulatory goats: A review. *Livest Prod Sci* 17: 135-147, 1987
  - 24) Van der Lee S, Boot LM. Spontaneous pseudo-pregnancy in mice II. *Acta Physiol Pharmacol Neerl* 5: 213-214, 1956
  - 25) Martin GB, Scaramuzzi RJ. The induction of oestrus and ovulation in seasonally anovular ewes by exposure to rams. *J Steroid Biochem* 19: 869-75, 1983
  - 26) 市川真澄. 鋤鼻嗅覚神経系の構造とその可塑性. 蛋白質核酸酵素 41: 2062-2069, 1996
  - 27) Monti-Bloch L, Jennings-White C, Dolberg DS, Berliner DL. The human vomeronasal system. *Psychoneuro-endocrinology* 19: 673-686, 1994
  - 28) Monti-Bloch L, Diaz-Sanchez V, Jennings-White C, Berliner DL. Modulation of serum testosterone and autonomic function through stimulation of the male human vomeronasal organ (VNO) with pregna-4,20-diene-3,6-dione. *J Steroid Biochem Molec Biol* 65: 237-242, 1998
  - 29) Smith TD, Siegel MI, Mooney MP, Burdi AR, Burrows AM, Todhunter JS. Prenatal growth of the human vomeronasal organ. *Anat Rec* 248: 447-455, 1997
  - 30) Smith TD, Siegel MI, Burrows AM, Mooney MP, Burdi AR, Fabrizio PA, Clemente FR. Searching for vomeronasal organ of adult humans: Preliminary findings on location, structure and size. *Microsc Res Tech* 41: 483-491, 1998
  - 31) Moran DT, Monti-Bloch L, Stensaas LJ, Berliner DL. Structure and function of the human vomeronasal organ. In RL Doty (ed). *Handbook of Olfaction and Gustation*, 1st ed, p793-820 Marcel Dekker, Inc., New York, 1995
  - 32) Takami S, Getchell ML, Chen Y, Monti-Bloch L, Berliner DL, Stensaas LJ, Getchell TV. Vomeronasal epithelial cells of the adult human express neuron-specific molecules. *NeuroReport* 4: 375-378, 1993
  - 33) Johnson EW, Eller PM, Jafek BW. Protein gene product 9.5 in the developing and mature rat vomeronasal organ. *Dev Brain Res* 78: 259-264, 1994
  - 34) 高橋 良. 曲がりなりにもできたヒトの鼻—頭と顔の攻防の主戦場. 鼻はなぜあるのか. 96-115頁, 築地書館, 東京, 1987
  - 35) 森 裕司, 濱田知宏. 鋤鼻嗅覚神経系の行動学的解析. 蛋白質核酸酵素 41: 2084-2092, 1996
  - 36) Johnson EW, Eller PM, Jafek BW. More evidence that the human vomeronasal organ has unique epithelial cells: Calbindin-, NSE-, ONP- and PGP-like immunoreactivity in two fetuses. *Chem Senses* 20: 714-715, 1995
  - 37) Nakashima T, Kimmelman CP, Snow JB. Vomeronasal organs and nerves of Jacobson in the human fetus. *Acta Otolaryngol (Stockh)* 99: 266-271, 1985
  - 38) Garcia-Velasco J, Garcia-Casas S. Nose surgery and the vomeronasal organ. *Aesthetic Plast Surg* 19:451-454, 1995
  - 39) Johnson A, Josephson R, Hawke M: Clinical and histological evidence for the presence of the vomeronasal (Jacobson's) organ in adult humans. *J Otolaryngol* 14: 71-79, 1985
  - 40) Meisami E, Bhatnagar KP. Structure and diversity in mammalian accessory olfactory bulb. *Microsc Res Tech* 43: 476-499, 1998
  - 41) Meisami E, Mikhail L, Baim D, Bhatnagar KP. Human olfactory bulb: aging of glomeruli and mitral cells and a search for the accessory olfactory bulb. *Ann NY Acad Sci* 855: 708-715,

1998

42) Pearson AA. The development of the nervus terminalis in man. *J Comp Neurol* 75: 36-66, 1941

43) Schwanzel-Fukuda M, Pfaff DW. Origin of luteinizing hormone-releasing hormone neurons. *Nature* 338: 161-164, 1989

44) Schwanzel-Fukuda M, Pfaff DW. Structure and function of the nervus terminalis. In RL Doty (ed). *Handbook of Olfaction and Gustation*, 1st ed, p835-864 Marcel Dekker, Inc., New York, 1995

**Morphological Studies on the Human Vomeronasal Organ** Kei Yamamoto, Department of Otorhinolaryngology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920-8640 — *J. Jusen Med Soc.*, **109**, 125 — 132 (2000)

**Key words** Japanese, vomeronasal organ, pheromone, immunohistochemistry, PGP9.5

#### Abstract

The vomeronasal organ (VNO) is a chemosensory apparatus for detecting pheromones in vertebrates. Although the human VNO was receive increasing attention in recent years, there have been few reports regarding its occurrence and structure. To determine the frequency of the human VNO in Japanese, 920 living subjects and 23 cadavers were examined macro- and microscopically. The VNO was identified by small pits in the nasal septum in 51.3 % of the living subjects and 91.3 % of the cadavers. The frequency of occurrence increased with age, but with no preferential differences between males and females. In 33.3 % of the cadavers, the VNO was found microscopically in the subepithelial lamina propria. Immunohistochemistry searches for a neural marker, protein gene product 9.5 (PGP 9.5), revealed the presence of bipolar PGP9.5 immunoreactive cells in the VNO epithelium. Interestingly, PGP 9.5-immunoreactive nerve fibers of the varicose type were often associated with PGP 9.5-immunoreactive cells within the epithelium. These results indicate the occurrence of constant neural components in the human VNOs of all ages and both genders, and suggest the possibility of neural transmission of pheromonal information in humans.